مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۱، سال ۱۳۹۵

خصوصیات میوه و بذر برخی ژنوتیپ‌های مرکبات و نتاج حاصل از گرده‌افشانی آزاد آن‌ها

Fruit and Seed Characteristics of some Genotypes of Citrus and Their Progenies Obtained form Open Pollination

مرضیه اتحادپور[1]، محمدرضا فتاحی‌مقدم[2]، ذبیح‌اله زمانی[3]، محمدرضا نقوی[4] و بهروز گلعین[5]

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۴- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۵- مربی، مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۳

چکیده

اتحادپور، م.، فتاحی مقدم، م. ر.، زمانی، ذ.، نقوی، م. ر. و گلعین، ب. ۱۳۹۵. خصوصیات میوه و بذر برخی ژنوتیپ‌های مرکبات و نتاج حاصل از گرده‌افشاری آن‌ها. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲:** ۶۵- ۴۳.

این تحقیق به منظور بررسی خصوصیات میوه و بذر برخی ژنوتیپ‌های مرکبات و برخی از صفات رویشی نتاج بذری حاصل از آن‌ها، موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات مرکبات رامسر و داراب (فارس)، با استفاده از ۲۷ صفت پومولوژیکی و مورفولوژیکی انجام شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تفاوت معنی‌داری برای اکثر صفات مربوط به میوه والدین و صفات رویشی نتاج در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. نتایج حاصل از تجزیه همبستگی ساده بین صفات نشان داد که همبستگی مثبت و منفی معنی‌داری بین برخی صفات از جمله طول با عرض میوه‌ها، ضخامت پوست میوه با تعداد بذر و تعداد برچه، pH با EC میوه، ارتفاع گیاه با قطر و تعداد برگ، طول با عرض برگ و دمبرگ نتاج و طول با عرض برگ و تعداد برگ نتاج وجود داشت. تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌ها با استفاده از تمام صفات انجام شد، که در نتیجه آن ژنوتیپ‌ها در فاصله ۲۵ به دو کلاستر اصلی تقسیم شدند. در کلاستر اول اکثر ژنوتیپ‌ها (۲۸ ژنوتیپ) قرار گرفتند درحالی که شش ژنوتیپ در کلاستر دوم قرار گرفت که بیشترین تعداد بذر، حداکثر ضخامت پوست میوه و بیشترین وزن میوه را داشتند. در فاصله ۱۴ کلاستر اول به دو زیر گروه تقسیم شد. ژنوتیپ‌های زیر گروه اول تعداد بذر و ضخامت پوست میوه بالاتری نسبت به زیر گروه دوم داشتند کمترین میزان درصد کل مواد جامد محلول، مشخصه این گروه بود. ژنوتیپ‌های زیر گروه دوم کمترین ضخامت پوست میوه و تعداد بذر پایینی داشتند. این گروه میزان مواد جامد محلول بالاتری نسبت به بقیه گروه‌ها نشان داشتند. تجزیه خوشه‌ای صفات رویشی با استفاده از تمام صفات توانست لیموها و همچنین ژنوتیپ کلئوپاترا را از بقیه ژنوتیپ‌ها جدا کند. این ژنوتیپ‌ها با بیشترین تعداد برگ اما با اندازه کوچک‌تر نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها، بیشترین تعداد خار را داشتند.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، تنوع ژنتیکی، صفات مورفولوژیکی، همبستگی، تجزیه کلاستر.

نویسنده مسئول: fattahi@ut.ac.ir تلفن: ۰۲۶۳۲۲۴۸۷۲۱

مقدمه

تیره مرکبات یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهی به شمار می‌رود. تاکسونومی و فیلوژنی مرکبات به‌دلیل سازگاری آمیزشی بین جنس Citrus و جنس‌های مرتبط با آن، زیاد بودن جهش جوانه‌ای و تاریخچه طولانی کشت و پراکندگی وسیع آن‌ها بسیار پیچیده و بحث برانگیز است. در گذشته مطالعاتی در مورد روابط بین جنس‌ها و گونه‌ها بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی انجام شده است. سیستم‌های طبقه‌بندی زیادی ایجاد شده است که در بین آن‌ها سیستم سوینگل (Swingle, 1943) و تاناکا (Tanaka, 1977) بیشترین مقبولیت را داشته‌اند. البته این دو محقق نظریه‌های کاملاً متفاوتی در مورد طبقه‌بندی گونه‌ها دارند، به‌طوری که سوینگل جنس سیتروس را فقط شامل ۱۶ گونه می‌دانست ولی تاناکا برای آن ۱۶۲ گونه توصیف کرد. متعاقباً بر اساس تجزیه و تحلیل‌های آنالیزهای فیلوژنی با استفاده از ویژگی‌ها و مارکرهای بیوشیمیایی توسط اسکورا (Scora, 1975) و بارت و رودز (Barrett and Rhodes, 1976)، گزارش شد که فقط سه گونه حقیقی در جنس Citrus وجود دارد و شامل سیترون یا بالنگ (*Citrus medica* L.)، ماندارین یا نارنگی (*C. reticulata* Blanco) و پوملو (*C. grandis* (L.) Osb.) است و سایر ژنوتیپ‌ها از تلاقی بین این گونه‌های حقیقی به وجود آمده‌اند. اخیراً این نظریه در مطالعات گوناگون با استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی و ملکولی شامل آیزوزایم‌ها، آنالیزهای ژنوم اندامک‌ها و ریزماهواره‌ها بیشتر تأیید شده است (Fang and Roose, 1997؛ Yamamoto *et al*., 1993؛ Fang *et al*., 1998).

اغلب ارقام پرتقال، گریپ‌فروت و لمون احتمالاً از دانهال‌های نوسلار یا جهش جوانه ایجاد شده‌اند. در نتیجه، میزان تنوع ژنتیکی در این گونه‌ها به‌رغم اسامی گوناگون نسبتاً کم است. در مقابل، ماندارین‌ها، پوملوها و سیترون‌ها به دلیل این‌که بسیاری از ارقام آن‌ها از طریق دورگه جنسی ایجاد شده‌اند دارای سطوح بالایی از تنوع ژنتیکی هستند (Uzun and Yesiloglu, 2012). کشت و کار وسیع و توأم انواع گونه‌های جنس مرکبات در مناطق مرکبات خیز و سازگاری بین گونه‌ای آن‌ها، وجود پدیده آپومیکسی در برخی گونه‌ها و دورگه‌های طبیعی یا مصنوعی زیادی که در این گیاه ایجاد شده باعث ایجاد تنوع زیادی در این گیاه شده است (Hvarleva *et al*., 2008).

تاکنون مطالعات اندکی در مورد تنوع گونه‌های مرکبات و روابط بین آن‌ها در ایران انجام شده است و شناسایی نمونه‌ها و مطالعه تنوع هنوز کار زیادی در پیش دارد. آگاهی از تنوع ژنتیکی و روابط بین نمونه‌های مرکبات قدم مهمی برای شناسایی، استفاده و قوت بخشیدن به آینده صنعت آن در ایران است. روش‌های متعددی جهت ارزیابی تنوع و روابط

ژنتیکی بین نمونه‌ها به‌کار گرفته شده است. نشانگرهای مورفولوژیکی به طور گسترده‌ای برای مطالعه و طبقه‌بندی از دهه ۱۹۷۰ مورد استفاده قرار می‌گرفته است. این نشانگرها اگرچه تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند به صورت گسترده‌ای جهت ارزیابی تنوع در گیاهان به‌کار گرفته شده‌اند. بسیاری از محققان گزارش کردند که در سیتروس تنوع مولکولی و مورفولوژیکی مستقل هستند و به ندرت در تنوع ژنتیکی سیتروس هم‌دیگر را تکمیل می‌کنند. به علاوه نحوه توارث صفات در سیتروس به صورت چند ژنی کنترل می‌شود که تنها می‌تواند از طریق ارزیابی مورفولوژیکی بررسی شود. در رابطه با بررسی تنوع مرکبات تاکنون تحقیقاتی در کشورهای مختلف انجام شده است (Barkley *et al.*, 2006؛ Fang *et al.,* 1998؛ Sharma *et al.,* 2004). در ایران نیز چندین مطالعه در رابطه با بررسی خصوصیات مرکبات با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی انجام شده است (Bakhshipour Miandeh *et al*., 2014؛ Kianoush *et al*., 2009؛ Rafat, 2011). شناخت تاکسونومی، روابط فیلوژنی و تنوع ژنتیکی در همه گیاهان برای تعیین روابط ژنتیکی، شناسایی ژرم‌پلاسم، کنترل فرسایش ژنتیکی، طراحی استراتژی‌های نمونه‌گیری و کلکسیون‌ها، استقرار برنامه‌های به‌نژادی و ثبت ارقام جدید دارای اهمیت است (Tripolitsiotis *et al.,* 2013). بنابراین مطالعه حاضر با هدف شناسایی و ارزیابی تنوع مورفولوژیکی صفات میوه والدین و صفات رویشی نتاج در نمونه‌های حاصل از تلاقی‌های آزاد مرکبات موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات مرکبات رامسر و داراب و برخی از ژنوتیپ‌های تجاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی در این تحقیق شامل برخی از دانهال‌های مرکبات موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات مرکبات رامسر و داراب که حاصل از گرده‌افشانی آزاد و جهش هستند و بعضی ژنوتیپ‌های تجاری متحمل به تنش شوری بود. سن این درختان حدود ۱۵ سال است. میوه‌های این ژنوتیپ‌ها به تعداد لازم (حداقل هفت میوه به ازای هر ژنوتیپ) برداشت و صفات مربوطه ارزیابی شدند بذرهای آن‌ها استخراج و شستشو داده شدند و به مدت یک هفته در دمای اتاق برای خشک شدن نگهداری شدند. متعاقباً بذرها به‌صورت جداگانه در گلدان‌های بزرگ حاوی نسبت برابر خاک باغچه و ماسه در شرایط گلخانه کاشته شدند. وقتی که ارتفاع گیاهچه‌ها به ۱۰ الی ۱۵ سانتی‌متر رسید، هر یک از گیاهچه‌ها به گلدان‌های کوچک با قطر دهانه ۱۲/۵ سانتی‌متر، که حاوی ترکیبی از ماسه و خاک باغچه با نسبت‌های برابر بود منتقل شدند.

صفات مورد ارزیابی میوه و بذر درختان مادری

ارزیابی صفات مربوط به میوه و بذر در ژنوتیپ‌های مربوط به کلکسیون رامسر (G1 تا G32 و همچنین G34 و G41) در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل و با حداکثر پنج تکرار انجام شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، پارامترهای طول و قطر میوه‌ها و بذرها و ضخامت پوست توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. وزن میوه با استفاده از ترازوی الکترونیکی با دقت یک صدم گرم انجام شد. آب میوه توسط آب میوه گیری دستی استخراج شد و برخی خصوصیات آن شامل pH، هدایت الکتریکی و درصد کل مواد جامد محلول اندازه‌گیری شد.

صفات مورد ارزیابی دانهال‌های حاصل از بذر پایه‌های مادری

ارزیابی صفات رویشی در دانهال‌های حاصل از تمام ژنوتیپ‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل هشت ماه پس از رشد دانهال‌ها انجام شد و تعداد تکرار برای صفات مختلف از ۷ تا ۳۴ متغیر بود. صفات توصیفی بر اساس توصیف‌نامه IPGRI انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها برای کلیه صفات با استفاده آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. برای تجزیه همبستگی از نرم افزار SPSS و با استفاده از روش چرخش عامل‌ها و به روش وریماکس انجام شد. برای محاسبه ماتریس تشابه از مربع فاصله اقلیدسی استفاده و سپس نمونه‌ها با کمک روش وارد (ward) گروه‌بندی شدند. همبستگی بین ماتریس فاصله دو کلاستر صفات میوه والدین و صفات رویشی نتاج با استفاده از نرم افزار SPSS به‌دست آمد.

نتایج و بحث

مشخصات ژنوتیپ‌های مرکبات مورد بررسی در جدول ۱، صفات اندازه‌گیری شده ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ و صفات رویشی اندازه‌گیری شده دانهال‌های حاصل از پایه‌های مادری در جدول ۳ نشان داده شده‌اند.

شناخت تاکسونومی، روابط فیلوژنی و تنوع ژنتیکی در مرکبات برای تعیین روابط ژنتیکی، شناسایی ژرم‌پلاسم، کنترل فرسایش ژنتیکی، طراحی راهکارهای نمونه‌گیری و کلکسیون‌ها، استقرار برنامه‌های به‌نژادی و ثبت ارقام جدید دارای اهمیت است. نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که اکثر صفات مورد مطالعه میوه و رویشی در دانهال‌های حاصل از ژنوتیپ‌های مورد بررسی با یک‌دیگر دارای تفاوت معنی‌داری بودند و به همین دلیل کلیه صفات در مراحل بعدی تجزیه آماری استفاده شدند. مقادیر حداکثر، حداقل، میانگین و ضریب تغییرات صفات مربوط به میوه در

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مرکبات مورد بررسی و منطقه جمع‌آوری آن‌ها
Table 1. Evaluated citrus genotypes and their locations

شماره ژنوتیپ Genotype No.	کد Code	منطقه Location	شماره ژنوتیپ Genotype No.		کد Code	منطقه Location
2	G1	Ramsar	50		G25	Ramsar
3	G2	Ramsar	51		G26	Ramsar
5	G3	Ramsar	52		G27	Ramsar
6	G4	Ramsar	53		G28	Ramsar
9	G5	Ramsar	54		G29	Ramsar
10	G6	Ramsar	56		G30	Ramsar
15	G7	Ramsar	57		G31	Ramsar
16	G8	Ramsar	58		G32	Ramsar
18	G9	Ramsar	Mexican lime	مکزیکن لایم	G33	Darab
22	G10	Ramsar	Cleopatra	کلئوپاترا	G34	Ramsar
24	G11	Ramsar	Rough lemon	راف‌لمون	G35	Darab
25	G12	Ramsar	Volkameriana	ولکامریانا	G36	Darab
28	G13	Ramsar	*C. aurantifolia* hybrid	لیمو خیاری	G37	Darab
29	G14	Ramsar	*C. aurantifolia* hybrid	لیمو خوشه‌ای	G38	Darab
30	G15	Ramsar	Rangpur lime	رانگپورلایم	G39	Darab
35	G16	Ramsar	Poncirus	پونسیروس	G40	Ramsar
38	G17	Ramsar	60		G41	Darab
40	G18	Ramsar	Bergamot	اترج	G42	Ramsar
41	G19	Ramsar	Citromello	سیتروملو	G43	Ramsar
42	G20	Ramsar	Sour orange	نارنج	G44	Ramsar
43	G21	Ramsar	Citrange	سیترنج	G45	Ramsar
45	G22	Ramsar	Bakraei	بکرایی	G46	Ramsar
48	G23	Ramsar	Eureka lemon × Unknown	اورکا لمون×نامشخص	G47	Ramsar
49	G24	Ramsar				

جدول ۲- صفات میوه ژنوتیپ‌های مرکبات، علایم اختصاری و روش اندازه‌گیری آن‌ها
Table 2. Fruit characters of citrus genotypes, abbreviations and their methods of evaluation

Measured character	صفت اندازه‌گیری شده	علامت اختصاری Abbreviation	واحد اندازه‌گیری Measuring unit	Measuring method	روش اندازه‌گیری
Fruit length	طول میوه	FL	mm	Calipers	کولیس
Fruit diameter	قطر میوه	FD	Mm	Calipers	کولیس
Fruit length/ diameter ratio	نسبت طول به قطر میوه	FL.FD	Ratio	Calculation	محاسبه
Fruit skin thickness	ضخامت پوست میوه	FrT	Mm	Calipers	کولیس
Number of pulp per fruit	تعداد پالپ در هر میوه	SN	Number	Counting	شمارش
Fruit weight	وزن میوه	FW	g	Scale	ترازو
pH	pH	pH	-	pH meter	pH متر
EC	هدایت الکتریکی	EC	μmho.cm	EC meter	EC متر
Soluble solid content	محتوای جامد محلول	SSC	%	Refractometer	رفرکتومتر
Number of seed per fruit	تعداد بذر به ازای هر میوه	SeN	Number	Counting	شمارش
Seed length	طول بذر	SeL	Mm	Calipers	کولیس
Seed width	عرض بذر	SeW	Mm	Callipers	کولیس
Seed length/ width ratio	نسبت طول به عرض بذر	SeL.SeW	Ratio	Calculation	محاسبه
Seed diameter	قطر بذر	SeD	Mm	Callipers	کولیس

جدول ۳- صفات رویشی در دانهال‌های مرکبات حاصل از پایه‌های مادری و روش اندازه‌گیری آن‌ها

Table 3. Vegetative characters in citrus seedlings obtained from maternal genotypes and their methods of evaluation

Measured character	صفت اندازه‌گیری شده	علامت اختصاری Abbreviation	واحد اندازه‌گیری Measuring unit	Measuring method	روش اندازه‌گیری
Seeding height	ارتفاع دانهال	SH	cm	Meter	نوار متر
Seeding diameter	قطر دانهال	SD	mm	Calipers	کولیس
Leaf lamina length	طول پهنک برگ	Lll	Mm	Ruler	خط کش
Leaf lamina width	عرض پهنک برگ	Llw	Cm	Ruler	خط کش
Leaf lamina length/ width ratio	نسبت طول به عرض پهنک برگ	Ll.w	Ratio	Calculation	محاسبه
Petiole length	طول دمبرگ	Pl	Centimeter	Ruler	خط کش
Petiole width	عرض دمبرگ	Pw	Centimeter	Ruler	خط کش
Petiole length/ width ratio	نسبت طول به عرض دمبرگ	Pl.w	Ratio	Calculation	محاسبه
Leaf number	تعداد برگ	LN	Number	Counting	شمارش
Leaf lamina shape	شکل پهنک برگ	Llsh	Code (1-6)	Elliptic, Ovate, Obovate, Lanceolate, Orbicular, Obcordate	بیضوی، تخم مرغی، تخم مرغی واژگون، نیزه‌ای، مدور، قلبی واژگون
Leaf lamina margin	حاشیه پهنک برگ	Llm	Code (1-4)	Crenate, Dentate, Entire, Sinuate	کنگره‌دار، دندانه‌دار، صاف، حاشیه موج دار
Petiole wing shape	شکل بال دمبرگ	Pwsh	Code (1-4)	Obcordate, Obdeltate, Obovate, Linear	قلبی واژگون، تخم مرغی، خطی
Absence/presence of petiole wings	وجود/عدم وجود بال دمبرگ	A.ppw	Code (1-2)	Present, Absent	وجود، عدم وجود
Thorns status	وضعیت خاردار بودن	Ts	Code (1-6)	Without thorns, very very low thorns, very few thorns, a little thorns, with thorns, with high thorns	بدون خار، دارای خیلی خیلی کم، خار خیلی کم، خارهای کوچک، دارای خار، داری خارهای بلند

جدول ۴ و مقادیر مربوط به صفات رویشی در جدول ۵ ارائه شده است. ضریب تغییرات بالاتر برای هر صفت نشان‌دهنده‌ی وجود دامنه وسیع‌تری برای آن صفت بود که امکان انتخاب را گسترده‌تر و با سهولت بیشتری فراهم می‌کند. در مورد صفات میوه می‌توان به صفات درصد کل مواد جامد محلول، تعداد بذر و وزن میوه‌ها اشاره کرد و در مورد صفات رویشی می‌توان به عرض دمبرگ، طول برگ و ارتفاع گیاه اشاره کرد. درجی و همکاران (Dorji *et al*., 2011) نشان دادند که تنوع بالایی بین نمونه‌های محلی ماندارین از لحاظ صفات برگ و میوه از جمله عرض برگ، عرض دمبرگ، وزن میوه، تعداد بذر و درصد کل مواد جامد محلول وجود دارد.

جدول ۴- مقادیر صفات میوه و بذر در پایه‌های مادری مرکبات، دامنه تغییرات و ضریب تنوع آن‌ها

Table 4. Values of fruit characters in maternal citrus genotypes, their range and coefficient of variation

Measured character	صفت اندازه گیری شده	واحد اندازه گیری Measuring unit	حداقل Minimum	میانگین Average	حداکثر Maximum	درصد ضریب تغییرات Coefficient of variation (CV)
Fruit length	طول میوه	Millimeter	32.40	103.90	156.89	12.84
Fruit diameter	قطر میوه	Millimeter	44.18	95.60	131.46	14.54
Fruit length/ diameter ratio	نسبت طول به قطر میوه	Ratio	0.67	1.08	1.53	9.69
Fruit skin thickness	ضخامت پوست میوه	Millimeter	2.74	13.01	32.41	23.98
Number of pulp per fruit	تعداد پالپ در هر میوه	Number	7.33	11.33	17.67	13.78
Fruit weight	وزن میوه	g	33.10	389.65	884.42	34.24
pH	pH	-	2.89	3.35	5.96	14.36
EC	هدایت الکتریکی	μmho.cm	0.85	2.37	3.40	10.62
Soluble solid content	محتوای جامد محلول	%	5.10	10.57	15.60	37.52
Number of seed per fruit	تعداد بذر به ازای هر میوه	Number	1.67	29.33	103.33	35.10
Seed length	طول بذر	Millimeter	10.28	13.29	16.77	10.05
Seed width	عرض بذر	Millimeter	3.07	4.29	8.00	23.34
Seed length/ width ratio	نسبت طول به عرض بذر	Ratio	1.31	3.18	4.29	32.29
Seed diameter	قطر بذر	Millimeter	5.54	7.27	9.87	12.19

جدول ۵- صفات رویشی کمی در دانهال‌های مرکبات حاصل از پایه‌های مادری، دامنه تغییرات و ضریب تنوع آن‌ها

Table 5. Quantitative vegetative characters in citrus progenies obtained from maternal genotypes, their range and coefficient of variation

Measured character	صفت اندازه گیری شده	واحد اندازه گیری Measuring unit	حداقل Minimum	میانگین Average	حداکثر Maximum	درصد ضریب تغییرات Coefficient of variation (CV)
Seeding height	ارتفاع دانهال	Centimeter	16.31	27.85	33.72	27.34
Seeding diameter	قطر دانهال	Millimeter	2.34	3.58	6.33	18.27
Leaf lamina length	طول پهنک برگ	Centimeter	2.85	7.85	11.17	43.44
Leaf lamina width	عرض پهنک برگ	Centimeter	1.78	4.1	6.04	18.83
Leaf lamina length/ width ratio	نسبت طول به عرض پهنک برگ	Ratio	1.63	2	3.77	41.22
Petiole length	طول دمبرگ	Centimeter	0	2.8	4.71	25.11
Petiole width	عرض دمبرگ	Centimeter	0	0.41	1.45	38.78
Petiole length/ width ratio	نسبت طول به عرض دمبرگ	Ratio	0	8.41	14.44	32.40
Leaf number	تعداد برگ	Number	6.21	16.23	23.29	25.60

همچنین داس و همکاران (Das *et al.*, 2005) در بررسی تنوع مرکبات هیمالیا از طریق نشانگرهای مورفولوژیکی و RAPD تنوع بالایی بین این ژنوتیپ‌ها از نظر صفات رویشی، صفات میوه، عملکرد و مقاومت به آفات و بیماری‌ها مشاهده کردند. البته از نظر اندازه گیاه و اجزای برگ و میوه شباهت‌های زیادی میان ژنوتیپ‌ها وجود داشت و در تجزیه خوشه‌ای

خیلی نزدیک یک‌دیگر قرار گرفتند. وجود تنوع بالا بین گونه‌های مختلف جنس مرکبات در تحقیقات متعددی ارزیابی شده است. این تنوع بالا در بین اعضا این خانواده بزرگ گیاهی ناشی از وجود سازگاری آمیزشی بین گونه‌های مختلف جنس مرکبات و نیز جنس‌های این تیره، هتروزیگوتی بالا در برخی گونه‌ها از جمله لایم‌ها و لمون‌ها، درصد بالای جهش‌های جوانه‌ای به ویژه در مورد برخی صفات ناپایدار از جمله بی‌بذری، نرعقیمی، ضخامت پوست و نیز رنگ پوست و آب میوه، سابقه طولانی کشت و کار آن، تکثیر سنتی با بذر و نیز گسترش کشت و کار آن در شرایط مختلف اقلیمی است.

مقایسه میانگین صفات مربوط به میوه نشان داد که بیشترین وزن میوه را ژنوتیپ G22 داشت و کلئوپاترا کمترین وزن میوه را به خود اختصاص داد. ژنوتیپ G16 بیشترین و ژنوتیپ G11 کمترین تعداد بذر را داشتند. همچنین ژنوتیپ G8 کمترین و ژنوتیپ G5 بیشترین میزان EC را به خود اختصاص دادند. در مورد صفت مواد جامد محلول (SSC) ژنوتیپ G7 کمترین و ژنوتیپ G12 بیشترین میزان را نشان دادند. با توجه به مقادیر صفات میوه و بذر مورد ارزیابی (جدول ۴) تنوع بالایی در صفات مختلف مشاهده شد که این تنوع بالا در دیگر درختان میوه نیز گزارش شده است (Alipour *et al.*, 2014؛ Poureskandari *et al.*, 2013؛ Damyar *et al.*, 2013؛ Najafzade *et al.*, 2014).

مقایسه میانگین صفات رویشی دانهال‌های حاصل از ژنوتیپ‌ها نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به ژنوتیپ G45 و کمترین میزان مربوط به ژنوتیپ G9 بود. همچنین ژنوتیپ کلئوپاترا بیشترین و ژنوتیپ G27 کمترین تعداد برگ را داشتند. کمترین طول و عرض برگ مربوط به ژنوتیپ پونسیروس بود. بیشترین طول برگ را ژنوتیپ G13 و بیشترین عرض برگ را ژنوتیپ G8 به خود اختصاص دادند.

بر اساس جدول تجزیه واریانس، تنوع بین ژنوتیپ‌ها بیشتر از تنوع درون دانهال‌های یک ژنوتیپ بود (جدول ۶). بالاتر بودن میزان تنوع بین ژنوتیپ‌ها نسبت به تنوع درون دانهال‌های یک ژنوتیپ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفت مورد بررسی است.

ضرایب همبستگی ساده

از همبستگی صفات برای بررسی و ایجاد رابطه منطقی و معنی‌دار بین صفات استفاده می‌شود. ایجاد رابطه بین چند صفت می‌تواند در بررسی صفاتی که اندازه‌گیری آن‌ها مشکل است کمک کند. در جدول ۷ ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده مربوط به میوه و صفات رویشی مربوط به دانهال‌های حاصل از ژنوتیپ‌ها (ژنوتیپ‌های مربوط به کلکسیون رامسر) به طور کامل ارائه شده است. نتایج نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌داری

جدول ۶- تنوع درون دانهال‌های یک ژنوتیپ و بین ژنوتیپ‌های مرکبات حاصل از پایه‌های مادری

Table 6. Variation within seedlings of a genotype and between genotypes of citrus obtained from material genotypes

Character	صفت	تنوع درون دانهال‌های یک ژنوتیپ Variation within seedlings of a genotype	تنوع بین ژنوتیپ‌ها Variation between genotypes	Character	صفت	تنوع درون دانهال‌های یک ژنوتیپ Variation within seedlings of a genotype	تنوع بین ژنوتیپ‌ها Variation between genotypes
Seeding height	ارتفاع دانهال	57.92	345.63	Fruit skin thickness	ضخامت پوست میوه	9.86	158.35
Seeding diameter	قطر دانهال	0.38	2.80	Number of pulp per fruit	تعداد پالپ در هر میوه	2.45	16.52
Leaf lamina length	طول پهنک برگ	2.24	14.56	Fruit weight	وزن میوه	16840.16	235648.98
Leaf lamina width	عرض پهنک برگ	0.57	3.97	pH	pH	0.03	2.97
Leaf lamina length/ width ratio	نسبت طول به عرض پهنک برگ	0.05	0.15	EC	هدایت الکتریکی	23.09	18.2
Petiole length	طول دمبرگ	0.50	4.43	SSC	محتوای جامد محلول	1.41	16.7
Petiole width	عرض دمبرگ	0.03	0.19	Number of seed per fruit	تعداد بذر به ازای هر میوه	86.81	1548.94
Petiole length/ width ratio	نسبت طول به عرض دمبرگ	7.91	29.55	Seed length	طول بذر	1.76	15.72
Leaf number	تعداد برگ	17.29	165.25	Seed width	عرض بذر	0.42	1.75
Fruit length	طول میوه	173.28	3709.46	Seed length/ width ratio	نسبت طول به عرض بذر	1.20	2.20
Fruit diameter	قطر میوه	84.95	1732.60	Seed diameter	قطر بذر	0.77	4.54
Fruit length/ diameter ratio	نسبت طول به قطر میوه	258.56	330.74				

بین طول و قطر میوه و همچنین طول و قطر میوه با وزن میوه وجود داشت. ضخامت پوست میوه نیز تحت تأثیر مثبت صفات طول، قطر و وزن میوه، تعداد بذر و تعداد برچه قرار گرفت. تعداد برچه با قطر و وزن میوه در ارتباط بود و میوه‌های با اندازه بزرگ‌تر تعداد برچه بیشتری داشتند. همچنین همبستگی مثبتی بین طول و قطر و وزن میوه با تعداد بذرها وجود داشت به طوری که میوه‌های بزرگ‌تر معمولاً دارای تعداد بذر بیشتری بودند. این همبستگی در بسیاری از میوه‌های دیگر از جمله کیوی (Vasilakakis *et al.*, 1997) و سیب (Keulemans *et al.*, 1996) مشاهده شده است. همچنین در مرکبات همبستگی شناخته شده‌ای بین تعداد بذر و اندازه میوه در بعضی ارقام گزارش شده است (Vithanage *et al.*, 1991؛ Wallase *et al.*, 2002). بنابر انتظار، بین طول و قطر بذر نیز همبستگی مثبت مشاهده شد. همبستگی منفی معنی‌داری بین pH و EC در سطح ۵٪ مشاهده شد.

در مورد ضرایب همبستگی بین صفات

جدول ۷- ضرایب همبستگی بین صفات مورفولوژیکی میوه والدین و رویشی نتاج در ژنوتیپ‌های مرکبات

Table 7. Correlation coefficients between fruit morphological traits of parents and progenies of citrus genotypes

صفات Traits	طول میوه Fruit length	قطر میوه Fruit diameter	ضخامت Fruit skin thickness	تعداد برچه Number of pulp per fruit	وزن میوه Fruit weight	pH	EC	TSS	تعداد بذر Number of seed per fruit	طول بذر Seed length	عرض بذر Seed width	قطر بذر Seed diameter
Fruit diameter	0.78**											
Fruit skin thickness	0.83**	0.74**										
Number of pulp per fruit	0.21	0.47**	0.41*									
Fruit weight	0.83**	0.81**	0.85**	0.49**								
pH	-0.28	-0.31	-0.20	0.06	-0.25							
EC	0.29	0.14	0.31	-0.09	0.28	-0.44*						
TSS	-0.31	-0.29	-0.33	0.02	-0.27	-0.16	-0.32					
Number of seed per fruit	0.47**	0.47**	0.48**	0.34	0.61**	-0.02	0.17	0.01				
Seed length	0.29	0.21	0.2	0.03	0.15	0.15	0.01	0.17	0.37*			
Seed width	-0.30	-0.03	-0.25	-0.41*	-0.42*	0.11	-0.13	-0.15	-0.18	-0.15		
Seed diameter	0.35	0.23	0.3	-0.02	0.13	0.06	0.31	-0.2	-0.04	0.46**	-0.00	
Seeding height	0.23	0.12	0.4*	0.32	0.38*	0.21	0.28	-0.08	0.32	0.22	-0.31	0.04
Seeding diameter	0.34	0.09	0.35	0.20	0.33	0.37*	0.01	-0.11	0.40*	0.35	-0.38*	0.08
Leaf lamina length	0.50**	0.28	0.42*	0.42*	0.58**	0.34	-0.06	-0.16	0.46**	0.03	-0.40*	-0.03
Leaf lamina width	0.25	0.07	0.16	0.36*	0.29	0.59**	-0.19	-0.18	0.23	0.15	-0.33	0.05
Leaf lamina length/ width ratio	0.54**	0.39*	0.55**	0.02	0.48**	-0.32	0.21	-0.05	0.31	-0.09	-0.04	0.06
Petiole length	0.14	0.22	-0.11	0.14	0.08	-0.08	0.04	0.20	0.02	0.38*	-0.29	0.35
Petiole width	0.11	0.22	-0.12	0.18	0.09	-0.20	0.02	0.30	0.15	0.41*	-0.32	0.25
Petiole length/ width ratio	-0.27	-0.16	-0.16	-0.16	-0.26	0.40*	-0.13	-0.09	-0.39*	-0.05	0.322	0.12
Leaf number	-0.36*	-0.376*	-0.31	0.11	-0.15	-0.00	0.01	0.48**	0.03	0.09	-0.42*	-0.24
Leaf lamina shape	-0.21	-0.3	-0.38*	-0.24	-0.32	0.18	0.16	-0.38*	-0.31	-0.25	0.14	-0.14
Leaf lamina margin	0.10	0.23	0.11	-0.09	0.13	-0.31	-0.18	-0.03	0.07	-0.25	-0.13	-0.29
Absence/presence of petiole wings	0.31	0.12	0.29	0.12	0.29	-0.02	0.15	-0.24	0.26	-0.24	-0.26	-0.29
Thorn status	-0.27	-0.06	-0.14	0.14	-0.11	0.25	0.06	0.11	0.1	0.17	0.23	0.14

* and **: Significant at 5% and 1% levels of probability, respectively.

*و **: به ترتیب معنی‌دار د سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

Table 7. Continued

ادامه جدول ۷

صفات Traits	ارتفاع دانهال Seeding height	قطر دانهال Seeding diameter	طول پهنک برگ پوست میوه Leaf lamina length	عرض پهنک برگ Leaf lamina width	نسبت طول به عرض پهنک Leaf lamina length/ width ratio	طول دمبرگ Petiole length	عرض دمبرگ Petiole width	نسبت طول به عرض دمبرگ Petiole length/ width ratio	تعداد برگ در میوه Leaf number	شکل برگ Leaf lamina shape	حاشیه برگ Leaf lamina margin	وضعیت دمبرگ Absence/presence of petiole wings
Seeding diameter	0.71**											
Leaf lamina length	0.43*	0.56**										
Leaf lamina width	0.3	0.51**	0.82**									
Leaf lamina length/ width ratio	0.27	0.14	0.29	-0.25								
Petiole length	-0.14	-0.05	0.01	0.14	-0.29							
Petiole width	-0.08	0.02	-0.02	0.07	-0.2	0.81**						
Petiole length/ width ratio	-0.12	-0.17	-0.22	0.02	-0.4*	0.19	-0.28					
Leaf number	0.41*	0.22	-0.11	-0.12	-0.18	0.19	0.17	0.06				
Leaf lamina shape	-0.07	0.16	-0.02	0.29	-0.28	-0.26	-0.42*	0.21	-0.18			
Leaf lamina margin	-0.15	-0.13	0.06	-0.11	0.32	-0.03	-0.002	-0.13	-0.13	0.18		
Absence/presence of petiole wings	0.31	0.31	0.31	0.24	0.31	-0.31	-0.31	-0.31	-0.22	0.31	0.29	
Thorn status	0.27	0.07	-0.24	-0.16	0.03	-0.25	-0.08	-0.05	0.38*	-0.23	-0.32	-0.19

* and **: Significant at 5% and 1% levels of probability, respectively.

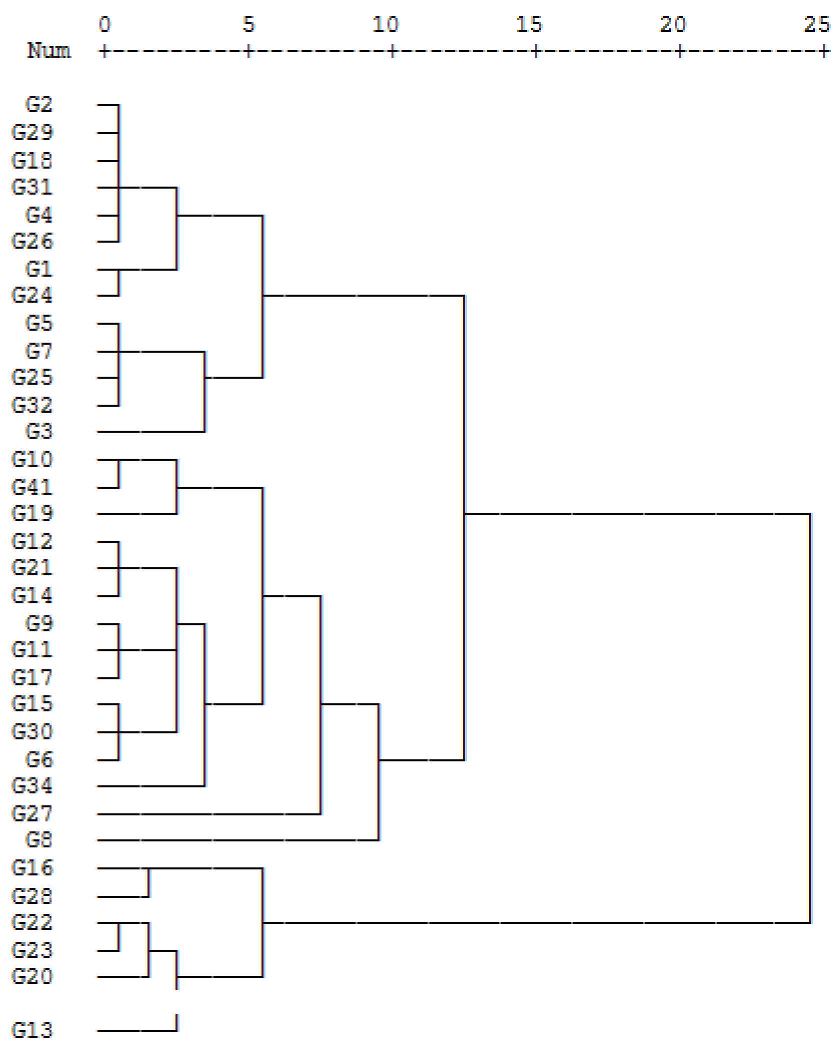
*و **: به ترتیب معنی‌دار د سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

رویشی اندازه‌گیری شده همان‌طور که در جدول ۷ مشاهده می‌شود همبستگی مثبت معنی‌داری بین ارتفاع دانهال با قطر آن و تعداد برگ گیاه وجود داشت. بین طول و عرض برگ و همچنین طول و عرض دمبرگ نیز همبستگی مثبتی مشاهده شد. همچنین طول و عرض برگ تحت تأثیر مثبت ارتفاع و قطر گیاه قرار گرفت.

تجزیه کلاستر

گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها بر اساس تعداد زیادی صفت یا عامل می‌تواند روشی مطمئن در تعیین شباهت‌ها و فواصل خویشاوندی یا دوری ژنوتیپ‌ها باشد. در این آزمایش تجزیه کلاستر صفات مربوط به میوه با استفاده از تمام صفات انجام شد. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است ژنوتیپ‌ها در دو گروه در فاصله ۲۵ قرار گرفتند که در کلاستر اول اکثر ژنوتیپ‌ها و در کلاستر دوم ژنوتیپ‌های G13، G16، G20، G22، G23 و G28 قرار داشتند و از نظر تعداد بذر بیشترین تعداد را دارا بودند. بیشترین طول بذر مربوط به ژنوتیپ‌های G16 و G28، بیشترین وزن میوه و حداکثر ضخامت پوست میوه نیز مربوط به ژنوتیپ‌های این گروه بود. این گروه بیشتر شبیه راف‌لمون و سیتروملو بودند و از تیپ نارنگی نبودند. ژنوتیپ G13 در این گروه در بررسی گلعین و همکاران (Golein *et al.*, 2005) در گروه بالنگ قرار گرفت. با توجه به این‌که لایم‌ها و لمون‌ها دارای بخش بزرگی از ژن‌های بالنگ است تشابه ظاهری ژنوتیپ‌های این گروه با راف‌لمون بیانگر نقش احتمالی بالنگ در ایجاد این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. به دلیل عدم حضور نمونه‌های شاهد به استثنای کلئوپاترا در گروه‌بندی به طور یقین نمی‌توان ارتباط و قرابت این ژنوتیپ‌ها را با گونه‌های مرکبات بیان کرد. همچنین بسیاری از محققان گزارش کردند که در سیتروس تنوع ملکولی و مورفولوژیکی مستقل هستند و ممکن است تجزیه کلاستر ملکولی در تطابق با تجزیه کلاستر مورفولوژیکی نباشد به این معنی که ژنوتیپ‌هایی که در گروبندی مولکولی در یک گروه قرار می‌گیرند در گروه‌بندی مورفولوژیکی در گروه‌های متفاوتی قرار گیرند. این نظریه می‌تواند عدم تطابق قرار گرفتن بعضی از ژنوتیپ‌ها در گروه‌های یکسان در این مطالعه و بررسی ملکولی گلعین و همکاران (۲۰۱۳) را توجیه کند.

با کاهش فاصله از ۲۵ به ۱۴ و با در نظر گرفتن فاصله استاندارد کلاستر اول به دو گروه اصلی تقسیم شدند. در زیر گروه اول ژنوتیپ‌های G1، G2، G3، G4، G5، G7، G18، G24، G25، G26، G29، G31 و G32 قرار گرفتند. این گروه تعداد بذر و ضخامت پوست میوه بالاتری نسبت به زیر گروه دوم نشان داد و کمترین میزان درصد کل مواد جامد محلول نیز از مشخصه این گروه بود. ژنوتیپ‌های این گروه دارای میوه‌های کشیده،



شکل ۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مرکبات با استفاده از تمام صفات میوه و بذر بر اساس روش وارد (Ward)

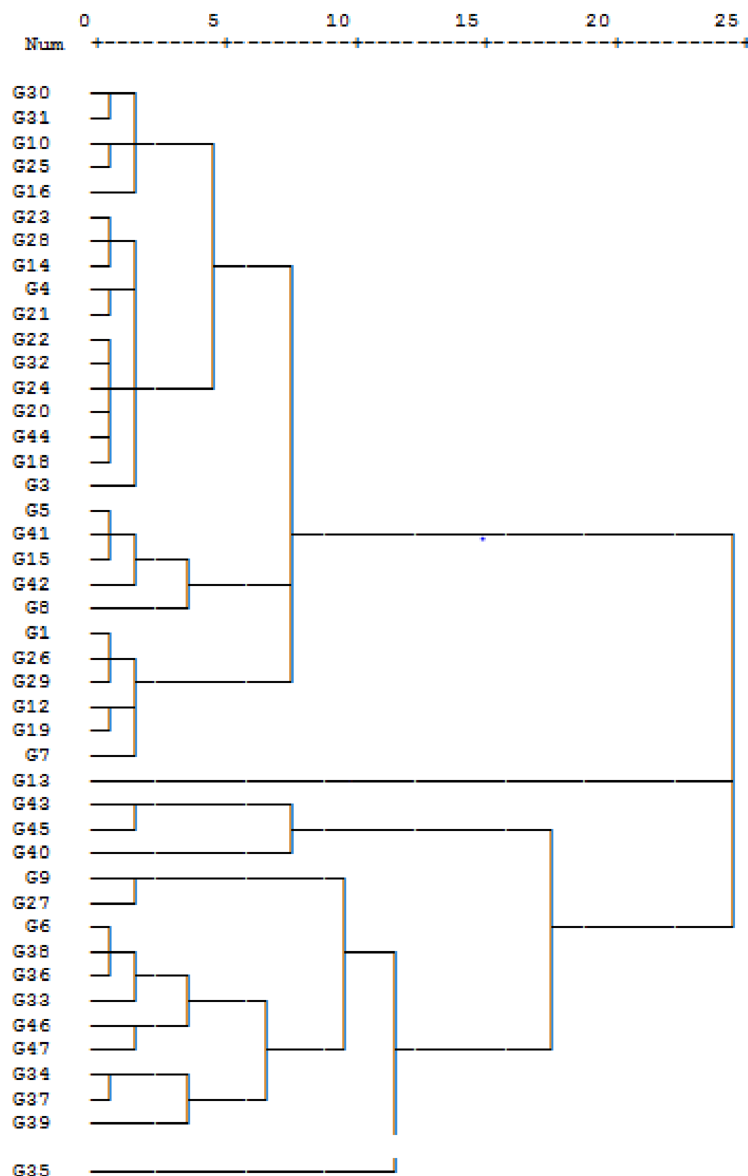
Fig. 1. Clustering of citrus genotypes based on all fruit and seed characters according to Ward method

دارای زائده نوک و آب‌دار بودند. اغلب این ژنوتیپ‌ها حفره مرکزی نداشتند بنابراین از تیپ نارنگی نبودند و بیشتر شبیه بالنگ بودند که بیانگر نقش احتمالی بالنگ در پیدایش این ژنوتیپ‌ها از طریق دورگ‌گیری یا جهش است. اگرچه در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ژرم‌پلاسم رامسر با استفاده از نشانگرهای SSR (Golein *et al*., 2013)، ژنوتیپ G4 در تجزیه کلاستر در کنار بالنگ قرار گرفت و در تطابق با فرضیه نقش احتمالی بالنگ در پیدایش ژنوتیپ‌های این زیر گروه است اما ژنوتیپ‌های G5 و G7 در بررسی مذکور در گروه نارنج و

پوملو قرار گرفته بودند.

کلئوپاترا و ژنوتیپ‌های G6، G8، G9، G10، G11، G12، G14، G15، G17، G19، G21، G27، G30، G33، G34 و G41 در زیر گروه دوم قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های این گروه کمترین ضخامت پوست میوه را داشتند و همچنین تعداد بذر پایینی داشتند. این گروه میزان مواد جامد محلول بالاتری نسبت به بقیه گروه‌ها نشان دادند. به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های این گروه ترکیبی از پرتقال، نارنگی و لیمو باشند. این ژنوتیپ‌ها دارای میوه‌های آب‌دار، پوست کمی زبر و بعضی از میوه‌ها دارای نوک بودند. قرار گرفتن پرتقال، نارنگی و دیگر گونه‌های مرکبات در یک گروه قبلاً در مطالعات مولکولی نیز گزارش شده است. در مطالعه اوزون و یسیل اوقلو (Uzun and Yesiloglu, 2012) در بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین سیتروس و جنس‌های وابسته بر اساس نشانگر SRAP، پرتقال، نارنگی، نارنج، پوملو و گریپ‌فروت در یک گروه بزرگ قرار گرفتند. سپس پرتقال‌ها از نارنگی‌ها در تشابه ۰/۷۸ جدا شدند. پرتقال از هیبرید پوملو و نارنگی به دست آمده است. بنابراین قرار گرفتن آن‌ها در یک گروه منطقی به نظر می‌رسد. بارکلی و همکاران (Barkley *et al.,* 2006) پیشنهاد کردند که بخش عمده ژنتیک پرتقال از ماندارین به دست آمده است و فقط بخش کوچکی از پوملو حاصل شده است.

تجزیه کلاستر صفات رویشی بر اساس تمام صفات صورت گرفتانجام شد همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود در فاصله ۹ ژنوتیپ‌ها در شش کلاستر گروه‌بندی شدند. در گروه اول اکثر ژنوتیپ‌ها قرار گرفتند این گروه به سه زیر گروه تقسیم شد که در زیر گروه اول ژنوتیپ‌های G3، G4، G10، G14، G16، G18، G20، G21، G22، G23، G24، G25، G28، G30، G31، G32 و نارنج قرار گرفتند. زیر گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های G5، G8، G15 ، G41 و اترج بود و در زیر گروه سوم ژنوتیپ‌های G1، G7، G12، G19، G26 و G29 قرار گرفتند. از نظر ارتفاع و قطر دانهال ژنوتیپ‌های این گروه ارتفاع و قطر نسبتاً بالا و همچنین تعداد برگ متوسطی نشان دادند. قرار گرفتن نارنج و اترج در یک گروه در این بررسی در تطابق با یافته‌های سایر محققان است. که بیان کردند منشأ اترج مبهم است اما به احتمال زیاد وابسته به نارنج است (Hodgson, 1976). سایر محققان این گونه را به عنوان هیبریدی از بالنگ و نارنج گزارش کرده‌اند. در بررسی تریپولیتشیوتس و همکاران (Tripolitsiotis *et al.*, 2013) با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR، بالنگ، نارنج و نمونه‌های ولکامریانا با فاصله از مرکز لمون‌ها در گروه لمون قرار گرفتند که در تطابق با گروه‌بندی مورفولوژیکی در این بررسی نبود. ژنوتیپ G13 به تنهایی در گروه دوم قرار گرفت که بیشترین طول برگ مربوط به این



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مرکبات با استفاده از تمام صفات رویشی بر اساس روش وارد (Ward)

Fig. 2. Clustering of citrus genotypes based all vegetative characters according to Ward method

ژنوتیپ بود. همچنین دارای ارتفاع زیاد بود. تفاوت بارز این ژنوتیپ نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نداشتن دمبرگ بود. این ژنوتیپ در بررسی گلعین و همکاران (Golein *et al*., 2013) در گروه‌بندی در گروه بالنگ قرار گرفت. گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های پونسیروس، سیتروملو و سیترنج بود. ژنوتیپ‌های این گروه سه برگچه‌ای بودند. کمترین طول و عرض برگ، بیشترین

عرض دمبرگ و همچنین بیشترین تعداد خار مربوط به ژنوتیپ پونسیروس بود. همچنین بیشترین ارتفاع دانهال بین تمام ژنوتیپ‌ها مربوط به سیترنج در این گروه بود. سیترنج‌ها و سیتروملوها به عنوان پایه استفاده می‌شوند و هیبرید بین گونه‌ای پونسیروس با پرتقال و گریپ‌فروت هستند که احتمالاً به‌دلیل غالب بودن صفت سه برگچه‌ای بخش اعظم ژنوم آن‌ها از پونسیروس منتقل شده است. اعتقاد بر این است که پونسیروس از نظر مورفولوژیکی از سیتروس فاصله دارد، برگ‌های سه برگچه‌ای خزان‌دار دارد و زمان گلدهی آن با گلدهی سیتروس همزمان نیست. هوانگ (Huang, 1997) پیشنهاد کرد که احتمالا پونسیروس یک گونه سیتروس بوده است و هنگامی که از جنوب به شمال پراکنش یافته است به پونسیروس تکامل یافته است. خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی (Herrero *et al.*, 1996) پیشنهاد می‌کنند که پونسیروس اولین گونه انحراف یافته از کلاستر سیتروس و فورچونلا بوده است. دیگر مطالعات ملکولی مانند RFLP، SSR، RAPD و SCAR نشان دادند که پونسیروس نزدیکی کمی با سیتروس دارد.

ژنوتیپ‌های G9 و G27 در گروه چهارم قرار گرفتند. حداقل ارتفاع مربوط به ژنوتیپ G9 در این گروه بود و همچنین حداقل قطر و حداقل تعداد برگ در ژنوتیپ G27 مشاهده شد. در مجموع این دو گیاه اندازه کوچک‌تری در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. بنابراین از پتانسیل این دو ژنوتیپ می‌توان در صورت نیاز به استفاده از پایه‌های کم رشد و کنترل اندازه درخت به طور مستقیم یا در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. گروه پنجم شامل ژنوتیپ‌های G6، مکزیکن‌لایم، کلئوپاترا، لیمو خیاری، لیمو خوشه‌ای، ولکامریانا، بکرایی، رانگپورلایم و اورکالمون × نامشخص بود. به استثنای راف‌لمون تمام لیموها در این گروه قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها بیشترین تعداد برگ اما با اندازه کوچک‌تر نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها و همچنین در مجموع بیشترین تعداد خار را داشتند. مکزیکن لایم به عنوان تری‌هیبرید توسط برت و رودس (Borrett and Rhodes, 1976) گزارش شده است اما تورس و همکاران (Torres *et al.*, 1978) گزارش کردند که این لیمو احتمالاً هیبرید بین بالنگ و پاپدا است. نیکولسی و همکاران (Nicolosi *et al.*, 2000) نشان دادند بالنگ به عنوان والد پدری و به احتمال خیلی زیاد *C. micrantha* یا ژنوتیپ خیلی مشابهی به عنوان والد مادری مکزیکن لایم است. ولکامریانا یک هیبرید است و از نظر صفات مورفولوژیکی شبیه لمون‌ها است. گلعین و همکاران (Golein *et al.*, 2012) در بررسی تنوع ارقام نر عقیم و کم بارور با استفاده از نشانگرهای SSR رابطه نزدیکی بین نارنج و ولکامریانا مشاهده کرد که نشان می‌دهد نارنج به عنوان والد مادری ولکامریانا است. در پژوهش حاضر نارنج و ولکامریانا در یک گروه

قرار نگرفتند. همچنین ولکامریانا در مطالعه RAPD و SCAR با راف‌لمون در یک گروه قرار گرفتند و به‌عنوان یک هیبرید بین بالنگ و نارنج گزارش شده است (Nicolosi *et al*., 2000). بسیاری از محققان گزارش کرده‌اند که در سیتروس تنوع ملکولی و مورفولوژی مستقل هستند و تقریباً مکمل تنوع ژنتیکی هستند که می‌تواند عدم تطابق گروه‌بندی مورفولوژی در این بررسی با مطالعات ملکولی قبلی را توضیح دهد. تورس و همکاران (Torres *et al*., 1978) گزارش کردند که رانگپورلایم از نظر مورفولوژیکی و ژنوتیپی تفاوت بسیاری با لیموها داشته و در شاخه نارنگی قرار دارد. نیکولسی و همکاران (Nicolosi *et al*., 2000) بیان کردند که رانگپورلایم هیبرید بین بالنگ و ماندارین بوده و با بالنگ‌ها در یک گروه قرار گرفت. همچنین بر اساس نظر بارکلی و همکاران (Barkley *et al*., 2006)، وبر (Webber, 1943) معتقد بود که رانگپورها بیشتر شبیه نارنگی هستند، بنابراین منشأ و والدین آن‌ها شناخته نشده است و در بیشتر مطالعات قبلی عموماً با نارنگی‌ها در یک شاخه قرار گرفتند. در مطالعه حاضر نیز رانگپور همراه با نارنگی کلئوپاترا در شاخه لیموها قرار گرفت.

در گروه آخر ژنوتیپ راف‌لمون قرار گرفت. این ژنوتیپ دارای خار کم، ارتفاع نسبتاً زیاد و حداکثر نسبت طول به عرض برگ بود. از نظر سایر صفات متوسط بود و نزدیک به گروه لیموها قرار گرفت. راف‌لمون به عنوان هیبرید بین نارنگی و بالنگ گزارش شده است.

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین ماتریس فاصله دو کلاستر صفات میوه والدین و صفات رویشی نتاج به‌دست آمد ($r = 0.51^{**}$) که نشان‌دهنده تطابق کلاستر صفات رویشی نتاج و کلاستر صفات میوه والدین بود.

در جدول ۸ ماتریس فاصله ژنوتیپ‌های مربوط به کلکسیون رامسر بر اساس مجموعه صفات مربوط به میوه ژنوتیپ‌ها و صفات رویشی دانهال‌های حاصل از آن‌ها به طور کامل ارائه شده است. اعداد بالاتر نشان‌دهنده تشابه کمتر ژنوتیپ‌ها یا فاصله بیشتر و برعکس است که بر اساس آن ژنوتیپ G13 و کلئوپاترا بیشترین فاصله اقلیدوسی ($D = 150.28$) و ژنوتیپ‌های G5 و G7 و همچنین ژنوتیپ‌های G4 و G29 کمترین فاصله ($D = 5.88$) را از هم داشتند.

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین ماتریس فاصله دو کلاستر صفات میوه والدین و صفات رویشی نتاج به‌دست آمد ($r = 0.51^{**}$) که نشان‌دهنده تطابق کلاستر صفات رویشی نتاج و کلاستر صفات میوه والدین بود.

شناسایی ژنوتیپ‌ها، ارقام، هیبریدهای درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در مرکبات و بررسی صفات آن‌ها امکان استفاده از آن‌ها را در برنامه‌های به‌نژادی فراهم می‌کند. همچنین بررسی روابط بین اعضای مختلف بین گونه‌های این جنس امکان انتخاب صحیح والدین را در

جدول ۸- ماتریس فاصله اقلیدوسی ژنوتیپ‌های مرکبات بر اساس صفات مورفولوژیکی میوه والدین و رویشی نتاج

Table 8. Distance matrix of citrus genotypes based on fruit and vegetative morphological traits of parents and progenies

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12	G13	G14	G15	G16
G1																
G2	47.26															
G3	12.80	39.73														
G4	26.39	36.32	16.82													
G5	59.11	57.20	32.96	32.46												
G6	30.52	44.41	19.21	5.88	23.73											
G7	111.91	107.11	78.83	79.88	71.42	72.52										
G8	36.34	62.79	28.35	28.60	20.58	21.55	75.18									
G9	29.51	58.21	21.46	24.03	24.56	15.13	66.30	20.02								
G0	22.56	62.31	17.17	26.56	33.19	24.75	84.78	32.74	14.75							
G11	79.12	102.18	79.32	87.63	128.60	100.95	149.43	117.38	99.30	87.62						
G12	28.57	62.02	14.21	20.67	26.95	18.20	83.97	32.24	22.01	8.08	101.91					
G13	26.96	42.45	20.07	10.46	23.20	9.85	74.71	16.49	19.22	15.87	109.11	13.88				
G14	39.07	79.55	41.06	57.48	80.90	54.78	106.56	74.85	49.85	34.18	102.51	50.50	48.48			
G15	39.37	38.87	26.65	29.88	22.95	29.22	86.89	46.02	26.92	25.15	120.51	26.52	26.61	48.22		
G16	33.78	78.30	40.16	38.52	51.00	35.75	85.03	37.42	18.81	24.51	81.67	38.47	35.41	37.70	38.09	
G17	23.39	49.83	22.82	23.92	63.54	33.66	97.91	52.71	28.33	34.12	59.29	42.03	40.50	50.02	42.45	26.94
G18	27.16	68.00	13.67	32.33	24.27	25.34	71.17	17.79	14.24	13.94	104.94	11.71	22.22	54.88	31.19	31.33
G19	11.92	42.45	20.67	16.27	60.62	22.55	102.87	45.47	30.30	29.50	64.65	37.81	29.06	36.13	37.51	27.03
G20	24.49	45.65	29.02	23.33	74.83	37.11	105.02	56.23	47.03	48.66	73.32	55.48	40.29	45.41	51.85	39.95
G21	9.06	35.41	14.19	15.55	45.63	21.83	79.43	24.49	19.83	18.41	72.35	27.77	14.09	34.95	32.67	23.31
G22	19.64	43.09	20.71	19.00	32.32	9.36	81.17	14.72	13.43	23.53	95.10	26.61	13.18	46.44	35.62	30.14
G23	11.81	31.95	12.02	13.79	41.88	16.06	74.09	28.93	22.22	16.61	86.12	17.95	9.43	34.61	27.71	33.29
G24	70.75	81.33	62.25	64.30	66.61	58.59	120.38	41.60	68.31	77.26	142.28	76.54	61.99	130.61	90.27	98.56
G25	38.38	56.02	29.35	33.56	67.75	40.45	91.32	68.66	41.95	37.54	86.22	49.82	40.83	21.26	44.34	45.15
G26	12.73	41.36	5.88	22.90	29.87	22.99	81.13	21.51	13.43	10.99	92.30	16.12	17.28	38.54	21.68	30.00
G27	29.84	46.27	18.01	15.59	20.03	10.29	93.55	23.51	13.99	12.15	103.81	13.60	10.40	43.25	24.48	34.62
G28	20.91	39.26	13.23	22.49	31.76	19.12	87.13	28.45	16.89	8.69	99.66	13.32	13.42	32.70	24.00	33.89
G29	21.12	37.58	20.38	10.27	42.26	12.98	72.56	34.57	16.20	19.49	71.23	27.25	14.40	44.84	31.87	31.24
G30	75.52	113.68	50.17	53.10	40.55	52.92	101.55	48.79	51.29	43.08	150.28	32.27	48.05	137.84	68.02	90.02
G31	31.60	57.87	20.36	23.88	25.12	22.45	64.69	26.54	6.63	10.53	104.33	18.73	17.07	48.02	23.89	25.95

Table 8. Continued

ادامه جدول ۸

	G17	G18	G19	G20	G21	G22	G23	G24	G25	G26	G27	G28	G29	G30
G18	39.19													
G19	12.87	42.72												
G20	15.36	59.87	11.27											
G21	16.53	25.45	11.50	16.43										
G22	38.83	23.74	22.09	40.12	15.00									
G23	28.34	24.30	15.98	29.81	7.09	12.43								
G24	86.34	55.90	78.05	92.22	59.49	51.21	68.86							
G25	24.67	56.63	22.86	19.75	26.35	47.36	33.02	116.12						
G26	25.97	9.00	23.79	37.26	10.82	17.38	11.43	56.19	35.32					
G27	36.65	20.44	28.32	46.42	22.13	14.36	18.14	61.51	36.98	14.12				
G28	35.91	17.03	26.32	44.79	16.48	15.35	10.21	62.70	35.71	6.67	6.34			
G29	19.83	34.46	13.26	25.89	9.24	15.01	10.04	68.31	27.50	20.22	18.43	19.96		
G30	85.28	34.60	90.58	107.25	70.28	69.64	68.16	75.59	111.36	51.09	51.93	60.45	64.06	
G31	33.53	16.64	35.02	50.53	19.61	24.22	20.24	81.92	38.06	11.40	14.92	15.13	17.27	44.99

برنامه‌های به‌نژادی فراهم می‌کند. به عنوان مثال تحقیقات نشان داده است که استفاده از ژنوتیپ‌های با پایه ژنتیکی نزدیک به هم در مرکبات امکان به دست آوردن نتایج ضعیف و نامطلوب را بیشتر می‌کند.

دشوار بودن طبقه‌بندی Citrus اغلب به‌دلیل سهولت دگرگرده‌افشانی‌های بین گونه‌ای و جنین‌زایی نوسلار است. تلاقی‌های متوالی، جریان ژنی، موتاسیون‌های جوانه‌ای و پلی‌پلوئیدی موجب ایجاد هیبریدها و ارقام جهش یافته زیادی شده است. در این بررسی در مورد صفات مورفولوژیکی در بین نمونه‌های ژرم‌پلاسم تنوع وجود داشت، با این حال مطالعات بیشتری در زمینه مولکولی جهت مشخص کردن بهتر تنوع و روابط این ژنوتیپ‌ها نیاز است.

References

Alipour, M., Abdolahi, H., Abdousi, V., Ghasemi, A., Adli, M., and Mohamadi, M. 2014. Evaluation of vegetative and reproductive characteristics and distincness of some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from different regions of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 30-1 (3): 507-529 (in Persian).

Bakhshipour Miandeh, H., Mehrgan, I., Golein, B., and Sadatmand, S. 2014. Assessment of genetic diversity in unknown and commercially citrus cultivars of north of Iran using SSR markers. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 4(16): 17-25 (in Persian).

Barkley, N. A., Roose, M. L., Krueger, R. R., and Federici, C. T. 2006. Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). Theoretical and Applied Genetics 112: 1519-1531.

Barrett, H. C., and Rhodes, A. M. 1976. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated citrus and its close relatives. Systematic Botany 1: 105-136.

Damyar, S., Hasani, D., and Parvaneh, T. 2013. Evaluation of some characteristics of native red-fleshed apple genotypes. Seed and Plant Improvement Journal 29-1 (3): 483-501 (in Persian).

Das, A., Mondal, B., Sarkar, J., and Chaudhuri, S. 2005. Genetic resource survey of mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) in the northeastern Himalayan region of

India. PGR Newsletter 143: 35-39.

Dorji, K., and Yapwattanaphun, C. 2011. Assessment of morphological diversity for local mandarin (*Citrus reticulata* Blanco.) accessions in Bhutan. Journal of Agricultural Technology 2: 485-495.

Fang, D. Q.,, Krueger, R. R., and Roose, M. L. 1998. Phylogenetic relationships among selected citrus germplasm accessions revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Journal of the American Society for Horticultural Science 123: 612-617.

Fang, D. Q., and Roose, M. L. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. Theoretical and Applied Genetics 95: 408-417.

Golein, B., Ghasemi, M., Fattahi Moghaddam, J., and Gholamian, E. 2013. Evaluation of genetic relationships among commercial and unknown citrus varieties using molecular markers ISSR. Journal of Agricultural Biotechnology 12: 111-124 (in Persion).

Golein, B., Nazeryan, M., and Babakhani, B. 2012. Assessing genetic variability in male sterile and low fertile citrus cultivars utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). African Journal of Biotechnology 11: 1632-1638.

Golein, B., Talaie, A., Zamani, Z., Ebadi, A., and Behjatnia, A. 2005. Assessment of genetic variability in some Iranian sweet oranges (*Citrus sinensis* Osbeck) and mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) using SSR markers. International Journal of Agriculture and Biology 2: 167-170.

Herrero, R., Asins, M. J., Carbonell, E. A., and Navarro, L. 1996. Genetic diversity in orange subfamily Aurantioideae. Interspecies and intragenus genetic variability. Theoretical and Applied Genetics 92: 599- 609.

Hodgson, R. W. 1967. Horticultural varieties of citrus. pp. 431-592. In: Reuther, W., Webber, H. J., and Batchelor, L. D. (eds.) The Citrus Industry, Vol. 1. University of California Press, Berkeley, USA.

Huang, C. J. 1997. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (in Chinese), Tomus 43(2). Science Press, Beijing, China.

Hvarleva, T., Kapari-Isaia, T. K., Papayiannis, L., Atanassov, A., Hadjinicoli, A., and Kyriakou, A. 2008. Characterization of citrus cultivars and clones in Cyprus

through microsatellite and RAPD analysis. Biotechnology and Bioengineering 65: 787-794.

Keulemans, J., Brusselle, A., Eyssen, R., Vercammen, J., and Daele, G. 1996. Fruit weight in apple as influenced by seed number and pollinizer. Acta Horticulturae 423: 201-210.

Kianoush, S., Babaeian Jelodar, N., and Asadi Abkenar, A. 2009. Evaluation of genetic diversity in citrus germless using microsatellite (SSR) markers. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 15(6): 108-117 (in Persian).

Najafzadeh, R., Arzani, K., and Bouzari, N. 2014. Assessment of morphological and pomological variation of some selected Iranian sour cherry (*Prunus cerasus* L.) genotypes. Seed and Plant Improvement Journal 30-1 (2): 243-267 (in Persian).

Nicolosi, E., Deng, Z. N., Gentile, A., LaMalfa, S., Continella, G., and Tribulato, E. 2000. Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. Theoretical and Applied Genetics 100: 1155-1166.

Poureskandari, E., Soleimani, A., Saba, J., and Taheri, M. 2013. Evaluation of pomological traits and classification of some olive cultivars in Zanjan province of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 29-1 (4): 623-636 (in Persian).

Rafat, F. 2011. Morphologic assessment of natural citrus hybrids. Proceedings of the National Congress of Genetic Resources and Biodiversity, Tehran, Iran (in Persian).

Scora, R.W. 1975. On the history and origin of citrus. Bulletin of the Torr. Botanical Club 102: 369-375.

Sharma, B. D., Hore, D. K., and Gupta, S. G. 2004. Genetic resources of citrus of north-eastern India and their potential use. Genetic Resources and Crop Evolution 51: 411-418.

Swingle, W. T. 1943. The botany of citrus and its wild relatives in the orange subfamily. pp. 128-474. In: Reuther, W., Webber, H. J., and Batchelor, D. L. (eds.) The Citrus Industry, Vol. 1. University of California, Berkeley, USA.

Tanaka, T. 1977. Fundamental discussion of citrus classification. Studia Citrologica 14: 1-6.

Torres, A. M., Soost, R. K., and Diedenhofen, U. 1978. Leaf isozymes as genetic markers in citrus. American Journal of Botany 65: 869–881.

Tripolitsiotis, C., Nicoludakis, N., Linos, A., and Hagidimitriou, M. 2013. Molecular

characterization and analysis of the Greek citrus germplasm. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici 41: 463-471.

Uzun, A., and Yesiloglu, T. 2012. Genetic diversity in citrus, genetic diversity in plants, Prof. Mahmut Caliskan (ed.), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from: http:www.intechopen.com.books.geneticdiversity-in-plants.genetic-diversity-in-citrus.

Vasilakakis, M., Papadopoulos, K., and Papa-georgiou, E. 1997. Factors affecting the fruit size of "Hayward" kiwifruit. Acta Horticulturae 444: 419-424.

Vithanage, V. 1991. Effect of different pollen parents on seedless and quality of ‘Ellendale’ tangor. Scientia Horticulturae 48: 253-260.

Wallase, H. M., King, B. J., and Lee, L. S. 2002. Pollen flow and the effect on fruit size in an ‘Imperial’ mandarin orchard. HortScience 37: 84-86.

Webber, H. J., Reuther, W., and Lawton, H. W. 1967. History and development of the citrus industry. pp. 1-39. In: Reuthen, W., Webber, H. J., and Batchelor, D. L. (eds.) The Citrus Industry. Volume 1. University of California Press, Berkeley, USA.

Yamamoto, M., Kobayashi, S., Nakamura, Y., and Yamada, Y. 1993. Phylogenic relationships of citrus revealed by diversity of cytoplasmic genomes. pp. 39-460. In: Hayashi, T., Omura, M., and Scott, N. S. (eds.) Techniques on Gene Diagnosis and Breeding in Fruit Trees. Fruit Trees Research Station, Okitsu, Japan.